

## 公開特許公報

昭53-84998

⑬Int. Cl.<sup>2</sup>  
 C 07 D 487/22  
 A 61 K 9/08  
 A 61 K 31/40 // A D U  
 (C 07 D 487/22  
 C 07 D 209/00  
 C 07 D 257/00 )

⑭日本分類  
 16 E 64  
 30 G 133.1  
 30 H 52  
 30 C 41

厅内整理番号  
 6736-44  
 7432-44  
 5727-44  
 6617-44

⑮公開 昭和53年(1978)7月26日  
 発明の数 1  
 番査請求 未請求

(全8頁)

## ⑯制癌方法

⑰特願 昭51-159879  
 ⑱出願 昭51(1976)12月29日  
 ⑲発明者 山本孝  
 東京都渋谷区代々木2丁目40番

10号

⑳出願人 山本孝  
 東京都渋谷区代々木2丁目40番  
 10号  
 ㉑代理人 弁理士 杉林信義

## 明細書

## 1. 発明の名称

制癌方法

## 2. 特許請求の範囲

- (1) 患部にフイトクロリン・ナトリウムを使用し、その後該個所に可視光線を照射することを特徴とする制癌方法。
- (2) 患部に、メチルグリオキサル添加のフイトクロリン・ナトリウムを使用した特許請求の範囲才1項記載の制癌方法。

## 3. 発明の詳細な説明

この発明はフイトクロリン・ナトリウム、又はフイトクロリン・ナトリウムと、該フイトクロリン・ナトリウムが異常増殖能をもつ細胞への親和性を増加するため添加されるメチルグリオキサル若しくはブリオキサルとの混合物との存在下において可視光線を照射することにより生体内の細胞の異常増殖能を変化させてその機能を停止させることを特徴とする制癌方法に関するものである。

この発明に使用されるフイトクロリン・ナトリ

ウム及びメチルグリオキサルは下記の方法で得られる。フイトクロリン・ナトリウムは粗製クロロフィルをエーテルに溶かし、混和しながら水酸化ナトリウム、メタノール溶液を加え、加水分解してMg-クロロフィリン・ナトリウムとする。この反応溶液を弱酸性とし、エーテルで水の不溶性のフイトクロリンを抽出し、エーテル層を水洗して不純物を除き、これに過剰の水酸化ナトリウム溶液を加え、水溶性となつたフイトクロリン・ナトリウム塩を沈澱させ、沈澱をエーテルで洗浄した後乾燥して製品が得られる。一方メチルグリオキサルは、市販のものである。これを等張中性溶液とし、フイトクロリン・ナトリウムを溶解して混合液が作製される。一例としてメチルグリオキサル 6.00 mg/ml 生食水とフイトクロリン・ナトリウム 1.0 mg/ml 生食水の混合液が使用される。

実験1: MH134 肝癌細胞  $6 \times 10^6$  個/皿にフイトクロリン・ナトリウム 800  $\mu$ gとなるようアスコルビン酸で調整し、白色螢光灯 80 W 2列、距離 9.0 cm、ガラスフィルターを使用して

0.580  $\text{erg/cm}^2/800$  のエネルギーの可視光線下で 37°C にて 30 分間加温した後、0.2% ニクロシンにて染色鏡検した。一方対照群として PH 7.0 生食水で上記と同一処理をした肝癌細胞を使用した。前者においてはニクロシンに不染で肝癌細胞は生存するが、細胞質は膨潤した。後者ではニクロシンに不染で肝癌細胞は生存し、処理前と変化がなかつた。上記処理細胞を各々  $4 \times 10^6$  個/ $\text{ml}$  生食水とし、O3H/Ho ハツカネズミに移植したが前者においては増殖しなかつたが、後者の対照群においては増殖した。

実験 2： MH134 細胞  $4 \times 10^6$  個/ $\text{ml}$  にフィトクロリン・ナトリウムを各々 10, 20, 30, 100, 200 及び  $300 \mu\text{g}/\text{ml}$  となるように PH 7.0 生食水にて調製し、37°C で 30 分間加温し対照群とした。一方前記と同様に操作し、且つ上記資料中の各群にメチルグリオキサル  $40 \mu\text{g}/\text{ml}$  を各々加えた。処理後、肝癌細胞を洗滌し、0.2% ニクロシン染色にて生存を確認した後、肝癌細胞に結合せるフィトクロリン・ナトリウムを分離抽出定量

(3)

○致死はなかつた。

実験 4： 雄 O3H/Ho ハツカネズミ体重 288 乃至 308 各群 20 匹で、その各々の背部を  $2.0 \times 2.0 \text{ cm}^2$  脱毛した皮下に、MH134 肝癌細胞  $4 \times 10^6$  個/ $0.1 \text{ ml}$  生食水を注入移植し、24 時間後より一方の対照群には生食水 0.2 ml を、他方では実験群 A においてはフィトクロリン・ナトリウム  $200 \mu\text{g}/0.2 \text{ ml}$  生食水を、実験群 B においてはフィトクロリン・ナトリウム  $200 \mu\text{g}$  + メチルグリオキサル  $200 \mu\text{g}/0.2 \text{ ml}$  生食水を、各々 1 日 1 回、3 日間連続し腫瘍部に注入した。これと同時に両群の飼育ケージ上方  $3.0 \text{ cm}$  の距離よりガラスフィルター越しに白色蛍光灯 100V, 1.84A, 74W, ランプ #OL30, 30W  $\times$  2 の可視光線を 1 日 10 時間連続 3 日間照射した。90 日間飼育し、腫瘍の発育と生存率を確認した。

上記対照群においては  $27.1 \pm 1.6$  日間に全例が腫瘍死した。実験群 A では 20 匹中 18 匹が  $49.4 \pm 4.8$  日間に腫瘍死し、2 匹は 90 日間で腫瘍の形成なく生存した。生存率は 4.0% であつ

た。フィトクロリン・ナトリウム単独処理群の前者においては処理濃度の順に各々 0.7, 1.8, 2.9, 11.7, 22.9 及び  $32.5 \mu\text{g}$  であり、メチルグリオキサル添加フィトクロリン・ナトリウム処理群の後者では 4.5, 6.0, 6.2, 16.0, 26.5 及び  $36.0 \mu\text{g}$  で平均して単独処理群に比べ  $3.73 \mu\text{g}$  結合量の増加があつた。

実験 3 & MH134 肝癌細胞  $4 \times 10^6$  個/ $0.1 \text{ ml}$  生食水を O3H/Ho ハツカネズミの背部皮下に移植し、固型癌を形成した。フィトクロリン・ナトリウム  $500 \mu\text{g}/\text{ml}$  単独腹腔内注入 24 時間後で、移植肝癌よりの検出量を同一ハツカネズミの肝よりの検出量に対する湿重量 g 当りの百分率で示すと、肝癌移植 3 日目で 52.6%、5 日目で 25.2%、7 日目で 17.0% であつた。一方メチルグリオキサル  $200 \mu\text{g}/\text{ml}$  添加フィトクロリン・ナトリウム  $500 \mu\text{g}/\text{ml}$  注入 24 時間後では、移植 3 日目で 62.0%、5 日目で 41.0%、7 日目で 30.0% と何れにおいてもフィトクロリン・ナトリウムの検出量は増加した。又上記両群共に肝での検出量に有

(4)

た。実験群 B では 20 匹中 4 匹が  $56.2 \pm 6.6$  日間に腫瘍死し、16 匹は 90 日間で腫瘍の形成なく生存した。生存率 8.0% であつた。

実験 5： 実験 4 と同様の操作で MH134 肝癌細胞を移植し、3 過間後の末期癌ハツカネズミ各 20 匹で、対照群は生食水  $0.5 \text{ ml}$ 、実験群 A ではフィトクロリン・ナトリウム  $500 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$  生食水を、実験群 B ではフィトクロリン・ナトリウム  $500 \mu\text{g}$  + メチルグリオキサル  $200 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$  生食水の混合液を  $0.5 \text{ ml}$  を、各々腫瘍内に 1 日 1 回、連続 3 日間注入し、実験 4 で使用された可視光線を 1 日 10 時間連続 3 日間照射した。対照群においては肝癌移植後  $32.1 \pm 1.0$  日間に全例腫瘍死した。実験群 A では  $50.2 \pm 4.6$  日間に全例腫瘍死した。実験群 B では 70 日間の観察で全例生存したが、転移又は腫瘍再発が観察されたもの 4 匹で、腫瘍の形成なく生存したものは 8.0% であつた。

実験 6： 多経産の雄 O3H/Ho ハツカネズミの各 20 匹の 4 ヶ月間ににおける自然先生乳癌を観察し

(5)

-972-

(6)

9%。室内光の下で対照群においては生食水を0.5mL、実験群Eではメチルグリオキサル100μg+フイトクロリン・ナトリウム25.0μg/0.5mL生食水を隔日に腹腔内に注入した。対照群は10匹に乳癌が発生したが、実験群においては乳癌の発生がなかつた。

実験4： MH134肝癌細胞を集積し、細胞塊1容に9容の0.25M麻糖を加え、凍結溶解し、超高波破綻し、15,000g乃至105,000g間の分画を得て、同容の0.25M麻糖を加えた。この実験は前記実験4の可視光線下で行なつた。最終容量は0.6mLでフイトクロリン・ナトリウムは最終濃度が0, 10, 100及び1000μg/mLとなるよう調整した。0.1M磷酸カリ緩衝液0.3mL、0.666Mメチルグリオキサル0.1mL、0.012M還元グルタチオン0.1mL、これに上記資料を0.1mL加えて該可視光線下で37℃で振盪し、最初のメチルグリオキサル決定のため5μL採取し、0.007Mセミカルバゾンを3.0mL加入して混和した。振盪加温10分後に5μL採取し、同様に操作し

( 7 )

○増殖能細胞への親和性を増加することがわかる。

実験4は治療効果実験で数字の示すとおりフイトクロリン・ナトリウム及びフイトクロリン・ナトリウム+メチルグリオキサルが治療にきわめて有効であることがわかる。オ3図はこの実験結果をグラフにしたものである。

実験5は、末期癌の治療効果実験であり、末期癌においても有効であることがわかる。

実験6は、癌予防実験であるが、予防においてもきわめて有効であることがわかる。

上記実験結果によつて明らかにこの出願の発明は生体内での細胞の異常増殖能を変化させてその機能を停止させる作用を発揮するものである。一般的に細胞内での異常増殖能の本態はグリオキサラーゼ酵素系に依存するものと思われる。即ち該グリオキサラーゼ酵素系は、グリオキサラーゼIとII及び補助因子である還元型のグルタチオンの三者により構成されており、細胞分裂を抑制する物質であるケトアルデヒドを不活性化して細胞発育を調節するといわれている。

( 8 )

○た。室温に15分間放置した後、分光光度計で波長286nmで生成したメチルグリオキサルーゼセミカルバゾンをセミカルバゾンを対照として測定した。上記より消費されたメチルグリオキサルを算出し、グリオキサラーゼ活性度とした。MH134肝癌の湿重量1g当たりの10分間に消費されたメチルグリオキサル量は対照群で22.4μmolesで、これを100%としてグリオキサラーゼの抑制率をみると、フイトクロリン・ナトリウム添加10, 100及び1000μg/mLの順にそれぞれ38%, 60%及び84%を示した。

実験1において、フイトクロリン・ナトリウムの存在下で肝癌細胞の増殖を抑制することがわかる。

実験2では、メチルグリオキサルの添加によりフイトクロリン・ナトリウムが異常増殖能細胞への親和性を増加することがわかる。これはオ1図、オ2図の実験結果を現わした表より明らかである。

実験3も上記実験2と同様メチルグリオキサルの添加によりフイトクロリン・ナトリウムが異常

( 9 )

○この発明のフイトクロリン・ナトリウムは、上記グリオキサラーゼIを不活性化する。又メチルグリオキサル添加によるフイトクロリン・ナトリウムの混合液は該グリオキサラーゼ酵素系に対して有効に作用し合目的である。これは上記実験7に示されているように、この発明の混合液が生体内細胞の異常増殖時にグリオキサラーゼを抑制し、メチルグリオキサルを有意として腫瘍形成能を消失せしめるためである。

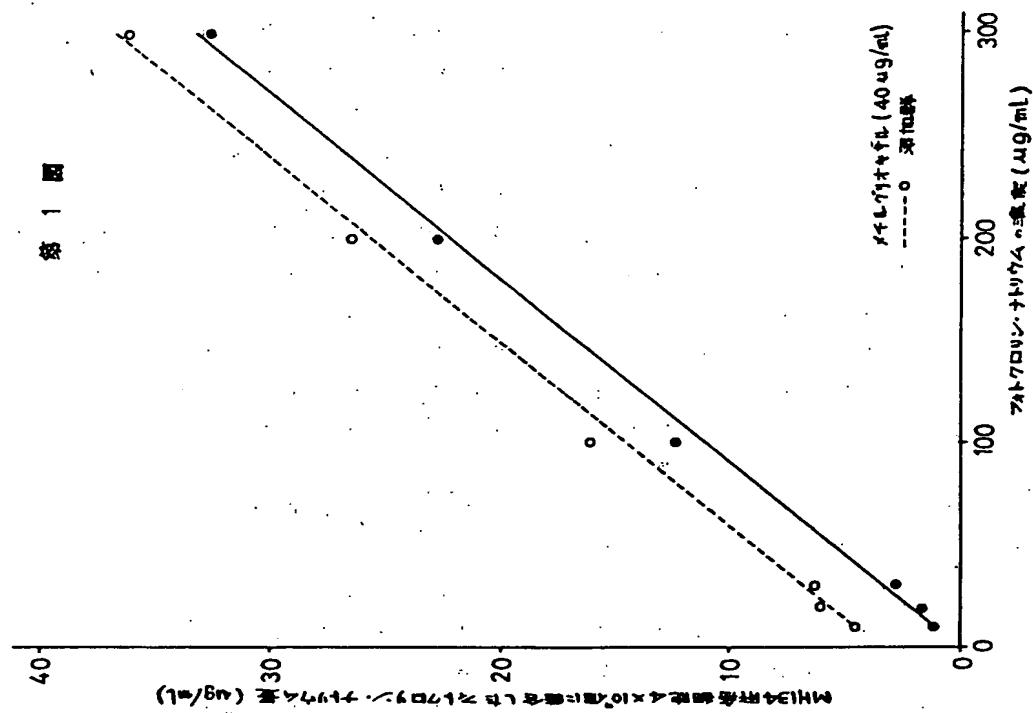
#### 4. 図面の簡単な説明

オ1図、オ2図は実験2を表にしたもので、オ3図は実験4をグラフにしたものである。

特許出願人 山本孝

代理人弁理士 杉林信義

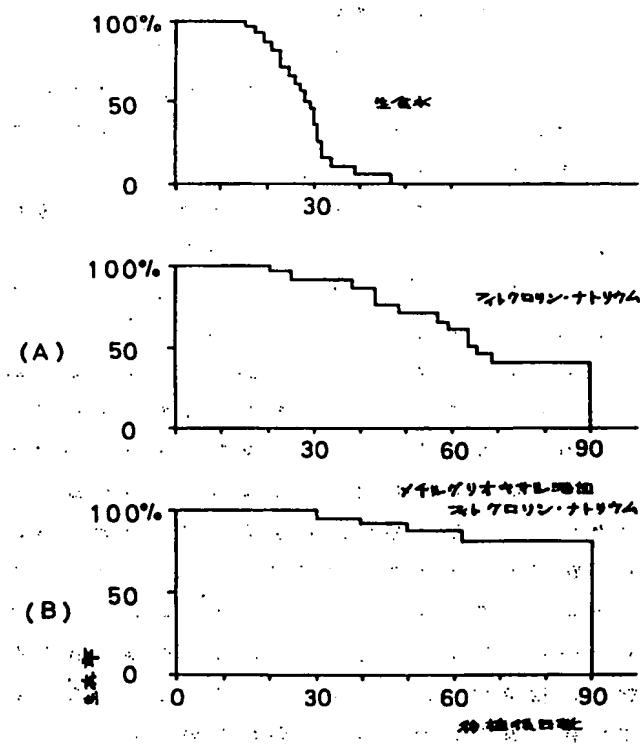
第1図



第2図

アセトアミノフェン (μg/ml)	組合ストラチオン・ナトリウム (μg/ml)	MH134肿瘤細胞 4 x 10^5 倍増率 (%)		増殖抑制率(%)
		光照射下	無照射	
0	0	0	0	-
10	4.0	4.5	-	-
20	0	1.8	1.8	-
30	-4.0	6.0	-	-
	0	2.9	2.9	-
100	0	11.7	11.7	-
200	4.0	15.0	-	-
	0	22.9	22.9	-
300	0	32.5	30.6	-
	4.0	36.0	-	-

MH134肿瘤細胞を光下照射した C3H/He ハムガキズミの生存曲線



第3図

昭和52年8月27日

明細書 (全文訂正)

特許庁長官 須谷 喜二 殿

## 1. 事件の表示

昭和51年特許願 第169879号

2. 発明の名称 ~~抗癌剤・創癌溶液および製造方法~~

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都渋谷区代々木2丁目40番10号  
氏名 山本 勲

## 4. 代理人 人 〒536

住所 清和市北清和3丁目9番6号  
電話 (0488) 31-5673番

氏名 [6846]弁理士 杉林 信

## 5. 補正命令の日付 なし

## 6. 補正により増加する発明の数

7. 補正の対象 明細書 52.8.29

## 8. 補正の内容 別紙のとおり

(4) PH 7.0 生食水中にフイトクロリン・ナトリウム 10~1000μg/ml を混入した創癌作用を有する創癌溶液。

(5) PH 7.0 生食水中にフイトクロリン・ナトリウム 10~1000μg/ml を混入し、さらにメチルグリオキサル若しくはグリオキサル 40~1000μg/ml を添加した創癌作用を有する創癌溶液。

(6) 患部に特許請求の範囲第1項記載の創癌剤を使用し、その後該部位に可視光線を照射することを特徴とする創癌方法。

(7) 患部に特許請求の範囲第6項記載の創癌剤を使用した特許請求の範囲第6項記載の創癌方法。

## 9. 発明の詳細を説明

この発明はフイトクロリン・ナトリウム、又はフイトクロリン・ナトリウムと、該フイトクロリン・ナトリウムが異常増殖細胞をもつ細胞への親和性を増加するため添加されるメチルグリオキサル若しくはグリオキサルとの混合物より成る創癌

## 1. 発明の名称

創癌剤・創癌溶液および製造方法。

## 2. 特許請求の範囲

- (1) フイトクロリン・ナトリウムより成る創癌作用を有する創癌剤。
- (2) フイトクロリン・ナトリウムにメチルグリオキサル若しくはグリオキサルを添加した創癌作用を有する創癌剤。
- (3) 粗製クロロフィルをエーテルに溶かし、温和しながら水酸化ナトリウム、メタノール溶液を加え、加水分解してMg-クロロフィリン・ナトリウムとし、この反応溶液を弱酸性として、エーテルで水に不溶性のフイトクロリンを抽出し、エーテル層を水洗して不純物を除き、これに過剰の水酸化ナトリウム溶液を加え、水溶性となつたフイトクロリン・ナトリウム塩を沈殿させ、沈殿をエーテルで洗浄した後乾燥して成るフイトクロリン・ナトリウムの製造方法。

(1)

剤、該創癌剤を患部に使用した後可視光線を照射することにより生体内的細胞の異常増殖を変化させてその機能を停止させる創癌法および上記創癌剤を製造する方法、並びに上記創癌剤のフイトクロリン・ナトリウム及びメチルグリオキサル若しくはグリオキサル添加のフイトクロリン・ナトリウムをPH 7.0 生食水中に混入して成る創癌溶液に関するものである。

この発明に使用されるフイトクロリン・ナトリウム及びメチルグリオキサルは下記の方法で得られる。フイトクロリン・ナトリウムは粗製クロロフィルをエーテルに溶かし、温和しながら水酸化ナトリウム、メタノール溶液を加え、加水分解してMg-クロロフィリン・ナトリウムとする。この反応溶液を弱酸性とし、エーテルで水に不溶性のフイトクロリンを抽出し、エーテル層を水洗して不純物を除き、これに過剰の水酸化ナトリウム溶液を加え、水溶性となつたフイトクロリン・ナトリウム塩を沈殿させ、沈殿をエーテルで洗浄した後乾燥して製品が得られる。一方メチルグリオ

キサルは、市販のものである。これを等張中性溶液とし、フィトクロリン・ナトリウムを溶解して混合液が作製される。一例としてメチルクリオキサル $400\mu\text{g}/\text{ml}$  生食水とフィトクロリン・ナトリウム $1.0\text{mg}/\text{ml}$  生食水の混合液が使用される。

実験1： MH136肝癌細胞 $4 \times 10^6$ 個/ $0.1\text{ml}$ にフィトクロリン・ナトリウム $200\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう $\text{pH} 7.0$ 生食水で調整し、白色螢光灯 $20\text{W} \times 2$ 列、距離 $60\text{cm}$ 、ガラスフィルターを使用して $580\text{nm}/\text{sec} \times 800$ のエネルギーの可視光線で $37^\circ\text{C}$ にて30分間加温した後、 $0.2\%$ ニクロシンにて染色鏡検した。一方対照群として $\text{pH} 7.0$ 生食水で上記と同一処理をした肝癌細胞を使用した。前者においてはニクロシンに不染で肝癌細胞は生存するが、細胞質は膨潤した。後者ではニクロシンに不染で肝癌細胞は生存し、処理前と変化がなかつた。上記処理細胞を各々 $4 \times 10^6$ 個/ $0.1\text{ml}$ 生食水とし、 $0.3\text{H}/\text{H} \cdot \text{ヘツカネズミ}$ に移植したが前者においては増殖しなかつたが、後者の対照群においては増殖した。

( 4 )

移植肝癌よりの検出量を同一ヘツカネズミの肝よりの検出量に対する重量比当たりの百分率で示すと、肝癌移植3日目で $53.6\%$ 、5日目で $25.2\%$ 、7日目で $17.0\%$ であつた。一方メチルクリオキサル $200\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加フィトクロリン・ナトリウム $500\mu\text{g}/\text{ml}$ 注入24時間後では、移植3日目で $62.0\%$ 、5日目で $41.0\%$ 、7日目で $50.0\%$ と何れにおいてもフィトクロリン・ナトリウムの検出量は増加した。又上記両群共に肝での検出量に有意差はなかつた。

実験4： 雄 $0.3\text{H}/\text{H} \cdot \text{ヘツカネズミ}$ 体重 $28\text{g}$ 乃至 $30\text{g}$ 各群 $20$ 匹で、その各々の背部を $2.0 \times 2.0\text{cm}^2$ 脱毛した皮下に、MH136肝癌細胞 $4 \times 10^6$ 個/ $0.1\text{ml}$ 生食水を注入移植し、24時間後より一方の対照群には生食水 $0.2\text{ml}$ を、他方では実験群△においてはフィトクロリン・ナトリウム $200\mu\text{g}/0.2\text{ml}$ 生食水を、実験群□においてはフィトクロリン・ナトリウム $200\mu\text{g} + \text{メチルクリオキサル} 200\mu\text{g}/0.2\text{ml}$ 生食水を、各々1日1回、3日間連続し腫瘍部に注入した。これと同時に両群の

○ 実験2： MH136癌細胞 $4 \times 10^6$ 個/ $0.1\text{ml}$ にフィトクロリン・ナトリウムを各々 $10, 20, 30, 100, 200$ 及び $300\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう $\text{pH} 7.0$ 生食水にて調整し、 $37^\circ\text{C}$ で30分間加温し対照群とした。

一方前記と同様に操作し、且つ上記資料中の各群にメチルクリオキサル $200\mu\text{g}/\text{ml}$ を各々加えた。処理後、肝癌細胞を洗滌し、 $0.2\%$ ニクロシン染色にて生存を確認した後、肝癌細胞に結合せるフィトクロリン・ナトリウムを分離抽出定量した。フィトクロリン・ナトリウム単独処理群の前者においては処理濃度の順に各々 $0.7, 1.6, 2.9, 11.7, 22.9$ 及び $32.5\mu\text{g}$ であり、メチルクリオキサル添加フィトクロリン・ナトリウム処理群の後者では $4.5, 6.0, 6.2, 15.0, 26.5$ 及び $36.0\mu\text{g}$ で平均して単独処理群に比らべ $3.73\mu\text{g}$ 結合量の増加があつた。

実験3： MH136肝癌細胞 $4 \times 10^6$ 個/ $0.1\text{ml}$ 生食水を $0.3\text{H}/\text{H} \cdot \text{ヘツカネズミ}$ の背部皮下に移植し、固形瘤を形成した。フィトクロリン・ナトリウム $500\mu\text{g}/\text{ml}$ 単独腔内注入24時間後で、

( 5 )

飼育ケージ上方 $30\text{cm}$ の距離よりガラスフィルター越しに白色螢光灯 $100\text{W}, 1.26\text{A}, 76\text{W}, \text{ラシブPOL30}, 30\text{W} \times 2$ の可視光線を1日10時間連続3日間照射した。90日間飼育し、腫瘍の発育と生存率を確認した。

上記対照群においては $87.1 \pm 1.6$ 日間に全例が腫瘍死した。実験群△では $80$ 匹中 $12$ 匹が $49.4 \pm 4.6$ 日間に腫瘍死し、 $8$ 匹は $90$ 日間で腫瘍の形成なく生存した。生存率は $40\%$ であつた。実験群□では $210$ 匹中 $6$ 匹が $56.2 \pm 6.6$ 日間に腫瘍死し、 $16$ 匹は $90$ 日間で腫瘍の形成なく生存した。生存率 $80\%$ であつた。

実験5： 実験4と同様の操作でMH136肝癌細胞を移植し、3週間後の末期癌ヘツカネズミ各 $20$ 匹で、対照群は生食水 $0.5\text{ml}$ 、実験群□ではフィトクロリン・ナトリウム $500\mu\text{g}/0.5\text{ml}$ 生食水を、実験群△ではフィトクロリン・ナトリウム $800\mu\text{g} + \text{メチルクリオキサル} 200\mu\text{g}/0.5\text{ml}$ 生食水の混合液を $0.5\text{ml}$ を、各々腫瘍内に1日1回、連続3日間注入し、実験4で使用された可視光線

( 6 )

( 7 )

を 1 日 1.0 時間連続 3 日間照射した。対照群においては肝癌移植後 32.1 ± 1.0 日間に全例腫瘍死した。実験群①では 50.2 ± 4.6 日間に全例腫瘍死した。実験群②では 70 日間の観察で全例生存したが、転移又は腫瘍再発が観察されたもの 4 例で、腫瘍の形成なく生存したものは 80 例であった。

実験 6：多經産の雌 03 日 ハツカネズミの各 50 例の 6 ヶ月間ににおける自然発生乳癌を観察した。室内光の下で対照群においては生食水を 0.5 ml、実験群③ではメチルグリオキサル 100/9 + フイトクロリン・ナトリウム 250/7 / 0.5 ml 生食水を隔日に腹腔内に注入した。対照群は 10 例に乳癌が発生したが、実験群においては乳癌の発生がなかつた。

実験 7：MH134 肝癌細胞を集積し、細胞塊 1 容に 0 容の 0.25 M 底糖を加え、凍結溶解し、超音波破壊し、15,000 g 乃至 105,000 g 間の分離を得て、同容の 0.25 M 底糖を加えた。この実験は前記実験 4 の可視光線下で行なつた。最終容量

(8)

○ 実験 1において、フイトクロリン・ナトリウムの存在下で肝癌細胞の増殖を抑制することがわかる。

実験 2 では、メチルグリオキサルの添加によりフイトクロリン・ナトリウムが異常増殖細胞への親和性を増加することがわかる。これはオ 1 図、オ 2 図の実験結果を現わした表より明らかである。

実験 3 も上記実験 2 と同様メチルグリオキサルの添加によりフイトクロリン・ナトリウムが異常増殖細胞への親和性を増加することがわかる。

実験 4 は治療効果実験で数字の示すとおりフイトクロリン・ナトリウム及びフイトクロリン・ナトリウム + メチルグリオキサルが治療に言わめて有効であることがわかる。オ 3 図はこの実験結果をグラフにしたものである。

実験 5 は、末期癌の治療効果実験であり、末期癌においても有効であることがわかる。

実験 6 は、癌予防実験であるが、予防においてもきわめて有効であることがわかる。

上記実験結果によつて明らかをようによつてこの出願

(10)

特開昭53-84998(7)

は 0.0 ml でフイトクロリン・ナトリウムは最終濃度が 0, 10, 100 及び 1000/9 / ml となるよう調整した。0.1 M 携酸カリ緩衝液 0.3 ml, 0.006 M メチルグリオキサル 0.1 ml, 0.012 M 遺元グルタチオン 0.1 ml, これに上記資料を 0.1 ml 加えて該可視光線下で 37°C で振盪し、最初のメチルグリオキサル決定のため 5 μl 採取し、0.007 M セミカルバザイド塩酸塩を 3.0 ml 加入して混和した。振盪加温 10 分後に 5 μl 採取し、同様に操作した。室温に 15 分間放置した後、分光光度計で波長 286 nm で生成したメチルグリオキサルーザセミカルバゾンをセミカルバザイドを対照として測定した。上記より消費されたメチルグリオキサルを算出し、グリオキサラーゼ活性度とした。MH134 肝癌の腫瘍量 1 g 当りの 10 分間に消費されたメチルグリオキサル量は対照群で 22.4 μmol/g で、これを 100% としてグリオキサラーゼの抑制率をみると、フイトクロリン・ナトリウム添加 10, 100 及び 1000/9 / ml の順にそれぞれ 38%, 60% 及び 84% を示した。

(9)

○ の発明は生体内での細胞の異常増殖細胞を変化させてその機能を停止させる作用を発揮するものである。一般的に細胞内での異常増殖細胞の本態はグリオキサラーゼ酵素系に依存するものと思われる。即ち該グリオキサラーゼ酵素系は、グリオキサラーゼ I と II 及び補助因子である還元型のグルタチオンの三者により構成されており、細胞分裂を抑制する物質であるケトアルデヒドを不活性化して細胞発育を調節するといわれている。

この発明のフイトクロリン・ナトリウムは、上記グリオキサラーゼ I を不活性化する。又メチルグリオキサル添加によるフイトクロリン・ナトリウムの混合液は該グリオキサラーゼ酵素系に対して有効に作用し合目的である。これは上記実験 7 に示されているように、この発明の混合液が生体内細胞の異常増殖時にグリオキサラーゼを抑制し、メチルグリオキサルを有効として腫瘍形成細胞を消失せしめるためである。

#### 4. 図面の簡単な説明

○ 1 図、オ 2 図は実験 2 を表にしたもので、オ

(11)

○ 3図は実験4をグラフにしたものである。

特許出願人 山 本 孝  
代理人弁理士 杉 林 信



( 12 )

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.